

**Оптимизация пептидных систем доставки нуклеиновых кислот с целью
генной терапии миомы матки**

Научный руководитель – Киселев Антон Вячеславович

Роман Алина Денисовна

Студент (бакалавр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: st096356@student.spbu.ru

Актуальной задачей генной терапии является разработка методов эффективной доставки генов в клетки-мишени. Вирусные векторы, несмотря на широкое применение в качестве средств доставки генотерапевтических конструкций, способны вызывать иммунный ответ и инсерционный мутагенез, тогда как невирусные векторы более безопасны, но менее эффективны. Исследуются модификации, позволяющие невирусным векторам преодолевать внеклеточные и внутриклеточные барьеры доставки нуклеиновых кислот. Миома матки – одно из наиболее распространенных заболеваний женщин репродуктивного возраста [1]. Простота локализации и доступность для эндоскопии делает миому удобной мишенью для генной терапии *in situ*.

Цель работы – подобрать оптимальный объем формирования комплексов для эффективной доставки ДНК пептидными носителями. Избыточный объем формирования негативно сказывается на состоянии тканей реципиента при инъекции, тогда как его уменьшение может увеличить эффективность трансфекции.

Для экспериментов были синтезированы катионные (R6p, R6pH) и анионные (E6p, cRGD-E6p) пептидные носители. Далее были сформированы нуклеопептидные комплексы в различных зарядовых соотношениях с плазмидами, несущими ген β -галактозидазы или зеленого флуоресцентного белка. Исследование нуклеопептидных комплексов включало тесты на вытеснение бромистого этидия (в т.ч. декстрансульфатный тест), оценку токсических свойств комплексов и анализ эффективности трансфекции. Эксперименты по оценке токсичности и трансфекционной эффективности проводили на клеточной линии PANC-1. Также были проведены эксперименты по доставке гена *GFP* в ткани миомы матки *ex vivo*, для которых были выбраны наиболее эффективные комплексы.

Тесты на вытеснение бромистого этидия показали высокую стабильность комплексов ДНК-пептидный носитель с измененным объемом формирования, сохраняющих плазмиду в связанном состоянии даже в присутствии полианиона. Резазуриновый тест на токсичность показал сохранение жизнеспособности клеток после добавления к ним нуклеопептидных комплексов. Результаты трансфекции культуры PANC-1 *in vitro* и тканей миоматозных узлов *ex vivo* продемонстрировали высокий процент GFP-положительных клеток, что говорит об эффективной доставке ДНК данными носителями.

Уменьшение объема формирования комплексов не повлияло на трансфекционную активность и эффективность связывания ДНК, а также не привело к повышенной токсичности комплексов для клеток PANC-1. Также было показано, что данные комплексы способны успешно доставлять генетические конструкции в ткани миомы матки.

Источники и литература

- 1) Stewart E. A. et al. Uterine fibroids // Nature Reviews Disease Primers. – 2016. – V. 2.